

日本脳炎の研究 (第5報)

日本脳炎赤血球凝集反応用抗原に対する保護物質の影響に就て

岡山大学医学部衛生学教室 (指導: 緒方益雄教授)

助手 藤 本 逸 郎

〔昭和30年2月10日受稿〕

緒 言

日本脳炎赤血球凝集反応及び同抑制試験を行ふに当つての要件は、抗原の特異性、抗原の強力性及び安定性にある事は他ウイルス反応と軌を一にするものであるが、既に屢々報告¹⁾²⁾され又著者³⁾⁴⁾も報告した如く、本抗原は作製後の保存が厳密に4°C以下を保つていても其の力価は減弱し、為に抑制試験の最も必要とされる夏季一初秋の候に不便を感じると共に、抗原の力価不足の為抑制価は動揺して不測の結果を招く危惧がある。

予研安東⁵⁾等は此の為抗原に0.3%卵黄緩衝化食塩水を安定剤として加えることに依り、10日後に於ても充分使用出来ると発表している。又北岡、緒方⁶⁾等も卵黄生理的食塩水及び脱脂乳液の強化安定作用を報告している。

私は之等の人々とは別に独自の考えから補体結合反応用抗原作製時のモルモット血清附加に着眼して、本抗原に対するモルモット血清の安定強化作用を検したところ、充分安定保護の作用あり又危惧なく抗原を使用することを見出した。

其の後矢追⁷⁾が精製痘苗の研究に当つて種々保護作用ある物質を検索しているにヒントを得て、本抗原に対する之等保護物質の作用を検索してみたところ、蔗糖及び葡萄糖には反つて不活化作用が著明に見られるのを知つた。

免疫学的研究に於て、保護膠質作用の応用は多方面に互つていて文献を列挙する迄もないが、免疫凝集反応の凝集素に対するモルモ

ット血清の作用、補体に対する糖類の保護作用等は何れも疑問視され得る隙もない事実であり、痘苗に対しても両者何れも好果を与えらるにも不拘、本日本脳炎抗原に対してのみ其の作用の相反するは、恐らく抗原組成の特質を徴はすものと見做し、抗原構造の研究の為将来に資するところがあるのではないかを想い、発表して諸家の批判を仰がんとするものである。

実 験 方 法

ウイルス：抗原作製用ウイルスは著者が1953年初秋岡山に於て分離した岡山53C株並に岡山53D株を使用した。

抗原：前報³⁾⁴⁾に準じて作製せる半精製抗原で遠心廻転数は8000 r. p. m. 30分である。主に20%抗原を使用した。

反応術式：前報³⁾⁴⁾の如し。但し反応の判定基準はすべて10%液を1倍として判定した。

其他特殊材料及び実験方法は其の都度之を記述する。

実 験 成 績

1) 各種保護物質の抗原に対する作用に就て

抗原力価2560倍のものを使用し、之に表記各材料を等量に加えた後、之を37°C水浴中に1時間放置し後反応メヂウムを以て之を5倍に稀釈した後、倍数稀釈に依り之の力価を検定した。(表1)

其の結果2%非働性モルモット血清食塩水、1%脱脂乳液、0.5%卵黄生理的食塩水

は抗原の加熱に依つて生ずる力価の減退を完全に防止した。この際之等の物質を加えた儘の効果を見た際往々力価の倍加されるのを認めた。

1%卵白アルブミン、1%アラビアゴム液は対照に使用せる食塩水と同じく、37°Cの加温に依つて力価は半減し何等保護作用を現はさなかつた。

19%蔗糖水、10.2%葡萄糖水（等量添加に依り各々9.5%、5.1%の等張となる如く計画す）は、対照に使用せる蒸留水の $\frac{1}{4}$ 減弱よりも悪るく、 $\frac{1}{8}$ 減弱を示して明に悪影響が認められた。

蒸留水の場合は添加後之を等張食塩水ならしめても結果に於て何等変りなく、磷酸塩緩衝液^M/100も殆んど差異を認めなかつた。

表1. 各種保護物質添加後加熱の影響

37°C 1St.

添 加 材 料	稀 釈 倍	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120
2%モルモット非働性血清		+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
1%脱脂乳		+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
0.5%卵黄食塩水		+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1%卵白アルブミン		+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
1%アラビアゴム液		+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
19%蔗糖水		+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
10.2%葡萄糖水		+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
蒸 留 水		+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
生理的食塩水		+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
非 加 熱 対 照		+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

2) モルモット血清の抗原保護作用に就て

a. モルモット血清の抗原4単位に対する抑制価及び雛雞赤血球に対する正常凝集素含有量に就て

モルモット血清を働性、非働性に不拘使用せんとするに際して先づ問題となるのは、モルモットに含まれる本抗原阻止力及び雛雞赤血球に対する正常凝集素の含有量である。

私は既報⁴⁾の如く斯る目的の為、本抗原4単位に対する抑制価を教室飼育のモルモットから検べて見たが<10~20倍であつて、特に夏季及び初秋の候、中和抗体の上昇すると云はれる時期に於ても抑制価の上昇は認められなかつた。（表略）

又雛雞赤血球に対する正常凝集素含有量は最高2倍稀釈（50%濃度）迄にて、大半はそれ以下であり比較的濃度を必要と目される本実験に於ては何等支障のないことが判つた。（表略）

然し後程実験を続行するに際しては終始此の二点には注意を怠らず努めて之等の低値の

もののみを使用した。

b. 非働性モルモット血清加反応メヂウムに於ける凝集反応に就て

従来凝集反応に於けるモルモット血清の効果を云々するは、Bail⁸⁾、Bayer⁹⁾、小宮¹⁰⁾等の如く、先づ非働化しない血清を使用して其の補体効果を云々せんとするもので、対照として非働性血清を使用しているにすぎない。然して実験方法も亦、先づ反応メヂウムたる生理的食塩水に血清を附加して実験を行い、其の効果を見た後に抗原及び凝集元にそれぞれ血清を附加して、其の何れに対する作用なるかを判定している。

今回は抗原に対する保護作用を目的とするのであるから、予め附加せるもののみに就て実験して差支えない訳であるが、一応メヂウムの場合に就て見ると表2の如く、一般の凝集反応に於けるが如き強化作用はなく、反つて著明な低下を示す。又働性血清の場合は更に強く低下し、濃厚液使用の際の一部溶血が認められた。モルモット血清中に含まれる阻

b. 非働性モルモット血清加凝集反応

血清濃度 \ 稀 釈 倍	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
20% 血 清 加	+	+	+	+	+	+	±	—	—
10% 血 清 加	+	+	+	+	+	+	+	±	—
5% 血 清 加	+	+	+	+	+	+	+	+	±
2% 血 清 加	+	+	+	+	+	+	+	±	—
対 照	+	+	+	+	+	+	+	±	—

c. モルモット血清をアミルアルコール、四塩化炭素処置後
非働化して添加せる凝集反応

血清濃度 \ 稀 釈 倍	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
10% 血 清 加	+	+	+	+	+	+	+	—	—
5% 血 清 加	+	+	+	+	+	+	+	+	±
2% 血 清 加	+	+	+	+	+	+	+	±	—
対 照	+	+	+	+	+	+	+	±	—

表4の成績は数十回行つたものの1であるが、血清加抽出抗原は常に不加生理的食塩水抽出抗原に比して其の力価が上昇し、2倍～4倍の強さを示した。

e. 2.5%非働化モルモット血清加生理的食塩水抽出抗原の耐熱性に就て

d 項に於て述べた如く予め抽出メヂウムに

非働化血清を添加して作製した抗原は、夏季に於ても克く其の力価を現はすものであるが、其の耐熱性は如何なるものかを次に検した。原液及び10%稀釈液を作り、37°C、28°C、23°C加温を行つて見た。此の際特に無菌的操作に留意した。

其の成績は図1に示す如くで、原液 37°C

表4. 2.5%非働性モルモット血清加生理的食塩水抽出抗原の力価

抗原の種類 \ 稀 釈 倍	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120
血 清 加 抗 原	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—
生 理 的 食 塩 水 抗 原	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—

加温は2時間迄は其の力価を維持し、3時間にて半減するが、対照生理的食塩水抗原は1時間にて半減し、2時間にて全消した。次に10倍稀釈抗原は37°C 1時間迄は其の力価を維持し、2時間にて $\frac{1}{4}$ 、3時間にて $\frac{1}{64}$ に激減したが、この対照は1時間にて既に消失した。之等両者の差異は28°C及び23°C加温の場合は更に明瞭になり、28°Cの場合は10倍液と雖3時間迄全々力価の減少を見ず、24時間に至つて始めて半減し、23°Cの場合は24時間に至るも全く減少を示さない。対照は28°C 1時間にて完全消失し、23°C 1時間迄

は力価を維持するも、2時間にて $\frac{1}{4}$ 、3時間にて $\frac{1}{8}$ 、24時間にては完全に消失する。

而し之等の抗原も45°C 15分加熱にては殆んど其の力価を失つた。

f. 2.5%非働性モルモット血清加抽出抗原の耐久性に就て

血清加抗原を2°Cの電気冷蔵庫に液状の儘放置する場合の耐久性を検した。抗原は試験管に入れ綿栓を施して之を貯蔵し、実験の度に無菌的に其の一部を取り出し、特にアンプル封入等の操作は之を行はなかつた。

其の成績は表5の如くである。表中経過の

図1 2.5% 非働性モルモット血清加生理的食塩水抽出抗原の耐熱性
 註、実線は添加抗原、点線は生食抗原

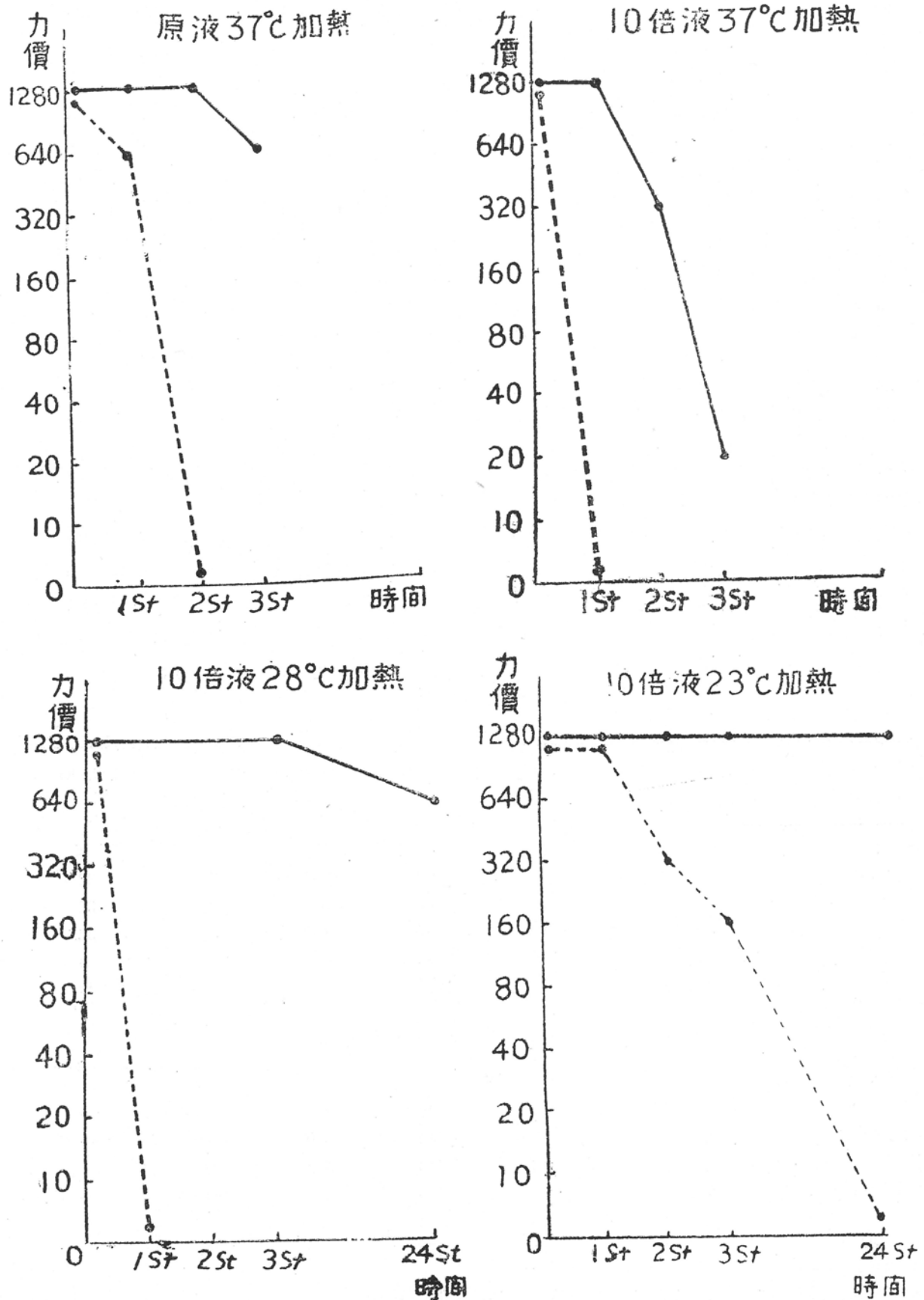


表5. 2.5%非働性モルモット血清加抽出抗原の耐久性

2°C保存

稀 釈 倍 経過日数		10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
直	後	+	+	+	+	+	+	+	—	—
2	日 後	+	+	+	+	+	+	+	±	—
4	日 後	+	+	+	+	+	+	±	—	—
6	日 後	+	+	+	+	+	+	±	—	—
8	日 後	+	+	+	+	+	+	+	—	—
1 0	日 後	+	+	+	+	+	+	+	—	—
1 2	日 後	+	+	+	+	+	±	±	—	—
1 8	日 後	+	+	+	+	+	+	—	—	—
2 4	日 後	+	+	+	+	+	+	±	—	—
3 0	日 後	+	+	+	+	+	+	+	±	—
3 6	日 後	+	+	+	+	+	+	+	—	—
4 2	日 後	+	+	+	+	+	+	±	—	—
4 8	日 後	+	+	+	+	+	+	+	±	—
6 0	日 後	+	+	+	+	+	+	+	—	—

途中に力価の動揺が見られたが、之は其の都度難雑赤血球を新調した為で、其の反応性如何に依つて多少が現はれたものであろう。60日後の力価が作製当時と何等変らないのは、明に60日間の保存に耐え得る証査である。本抗原の60日後のものを以て抑制反応を行つて見たが充分使用可能であつた。

g. 非働性モルモット血清加抗原に依る患者血清の抑制試験に就て

血清加抗原の耐久、耐熱性は以上の如くであるが、抗原として最も要求される特異性に関しては如何か、之を検する為昭和28年度に於て岡大病院に入院せる患者の中、補体結合反応検査を行い得た者5名13血清材料を以

表6. 非働性モルモット血清加抗原使用に依る抑制試験

患 者 名	抗 体 別 抗 原 別	ア. 四 処 置 血 清		無 処 置 血 清		補 結 価 中 山 株
		添加抗原	普通抗原	添加抗原	普通抗原	
三 村	No. 1	20	20	80	40	4
	No. 2	80	80	1280	640	32
	No. 3	80	80	320	320	32
	No. 4	80	80	160	320	32
古 志	No. 1	80	80	640	640	4
	No. 2	1280	1280	1280	1280	32

以 上 脳 炎 患 者

岸 本	No. 1	20	40	640	640	—
	No. 2	40	40	1280	1280	—
村 田	No. 1	10	<10	640	1280	—
	No. 2	10	<10	320	320	—
	No. 3	20	<10	640	640	—
	No. 4	10	<10	80	40	—
松 岡	No. 1	10	<10	320	320	—

以 上 脳 炎 疑 似 患 者

原で例示した表7 b の成鶏 A はヘパリン採血血球で40倍が最高であつた。而し添加抗原が抗原含有のリポイド反応を強める傾向は否定し得ないので、本抗原が成鶏赤血球に反応を示す事のみによつて、Stone¹²⁾, Olitsky¹³⁾等の認める感受性強き成鶏赤血球を使用するは、添加抗原使用時に於ても危険なりと考える。

強化作用ある動物血清としては主にモルモット血清を使用した。之は充分其の安全性を考え、又検査した後に行つたもので、此の外家兎血清、成鶏血清、人血清等も充分使用し得る事は種々実験して見た。成績は大体モルモットに一致した。(表略)

又非働化モルモット血清のアルブミン及びグロブリンの各部分に於ても成績は大約全血清に一致した。

3) 糖類の日本脳炎抗原に及ぼす作用に就て

糖類添加の補体加熱保護作用は緒方教授、

大川¹⁴⁾を始め、永田¹⁵⁾、波多野¹⁶⁾の報告がある。補体に対しては糖類は加熱に依る補体の変性を其の保護膠質的作用に依り保護し、加熱に依る血清蛋白の膠質粒子集合体の変化を阻止するものであらうと波多野は結論している。矢追⁷⁾も蔗糖は牛痘の加熱に依る変性を阻止する保護物質として優秀なるものであると断定している。

然るに、本抗原に対しては表1に見る如く其の保護的作用の見られぬのみか、反つて抗原力低下の作用を認める。そこで之等糖類の作用を逐次検討して見た。

表8は等張に加えた糖類の加温、非加温の状況を検したものであるが、実験当時の室温13°C 1時間と37°C 加温1時間の間には明な差異を認め、13°C に於ては不添加対照と同一の5120倍力価を示すに対し、37°C 1時間にては其の力価は $\frac{1}{4}$ に減少する。

表8. 糖類添加後の温度の影響

表8. 糖類添加後の温度の影響											加温 1St	
稀 釈 倍 温 度, 糖 類		10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240
13℃	19 % 蔗 糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	10.2%葡萄糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
37℃	19 % 蔗 糖	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	10.2%葡萄糖	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
非 加 熱 不 添 加 対 照		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

又図2の如く蔗糖に於て其の濃度を9.5%, 19%, 38%, 76%と倍加すれば、同一37°C 1時間の操作に於て、其の力価は直線状に低下する。

又作用温度を37°Cに一定し、時間を延長すれば、38%濃度の添加時に於て、30分~1時間は同じ低下率なるも、爾後直線状に低下の傾向を示す。

之等の実験成績を総合すれば蔗糖等糖類は抗原に対して或種の化学反応の結果其の力価を減少せしめることが判明する。

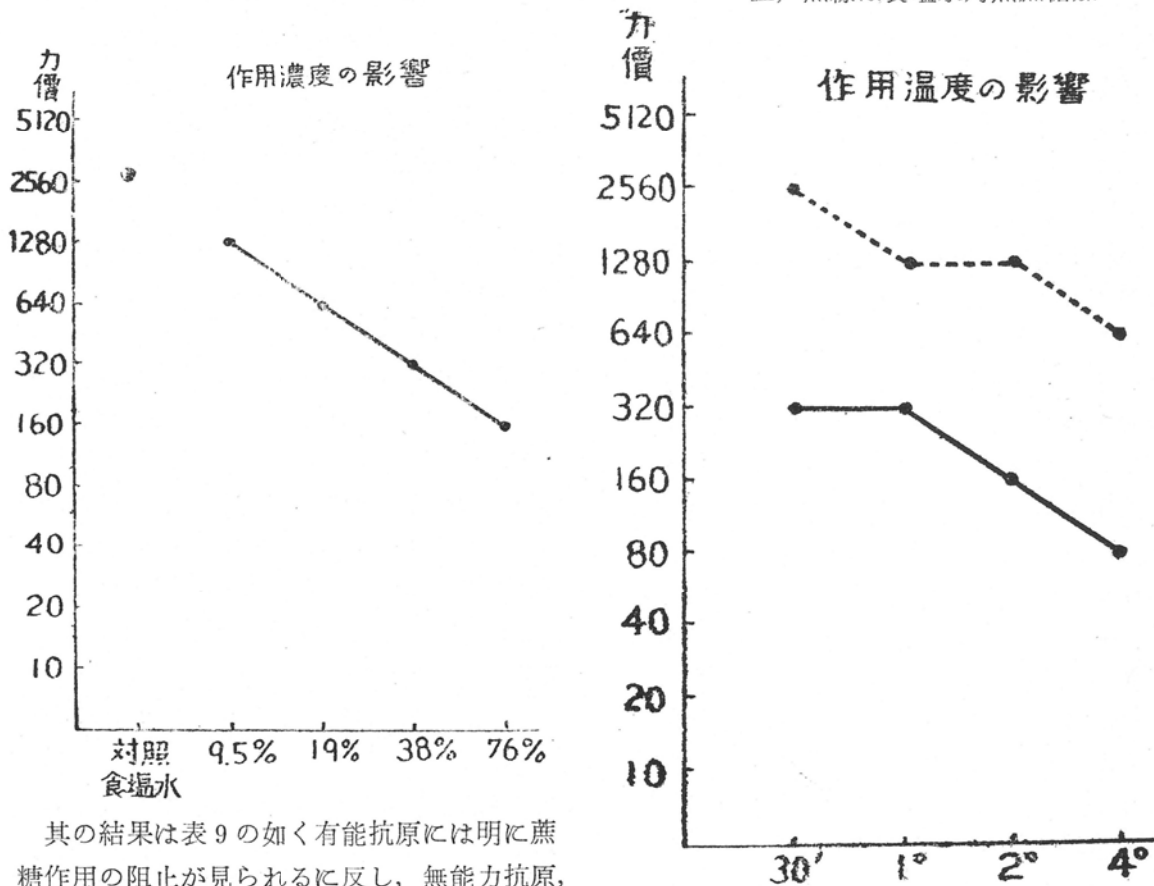
脳には果糖と葡萄糖に対して親和力の著しく異つた酵素を有すると云ふが¹⁷⁾、成書¹⁸⁾に

依り酸酵管を用いて、蔗糖、葡萄糖、果糖の各 $\frac{M}{20}$ 液に各1~2cc宛の抗原を加えて酸酵試験を行つて見たが、成績は陰性でgas発生等は見られなかつた。

そこで本抗原物質は正常マウス脳実質がウイルス感染に依り或種の変化(主に蛋白組成と目す)を起しているのではないかと考え、抗原加熱物質、無能力抗原、正常脳乳剤、加熱遠心除蛋白抗原、蒸餾水等に予め等量の76%蔗糖を加えて37°C 1時間加温した後、更に之等に依つて薄められ、結合された蔗糖液を抗原に等量添加して、今一度37°C 1時間加温を行つて見た。

図2 抗原に対する蔗糖の影響 (加温37°C)

註, 点線は食塩水対照蔗糖加



其の結果は表9の如く有能抗原には明に蔗糖作用の阻止が見られるに反し、無能力抗原、正常マウス脳、除蛋白抗原は対照に使用せる蒸餾水と同じく本蔗糖液阻止の作用は全々認められなかつた。

以上の実験に依つて、日本脳炎抗原としての能力を有するマウス脳中には何等かの特種

の蛋白合成が行われるも、無能力抗原及び正常マウス脳には其の事実なく、又蔗糖は除蛋白抗原には何等作用なき点より見て、明に抗原能力を有するマウス脳蛋白質に作用するものであることが判明した。

表9. 予め諸種マウス脳乳剤等量と37°C 1時間加温処置せられた76%蔗糖の影響

稀釈倍	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
添加材料									
60°C 加熱抗原	+	+	+	+	+	+	+	—	—
無能力抗原	+	+	+	+	±	—	—	—	—
正常脳乳剤	+	+	+	+	+	±	—	—	—
除蛋白抗原	+	+	+	+	+	—	—	—	—
蒸餾水対照	+	+	+	+	+	—	—	—	—
1%非働性モルモット血清	+	+	+	+	+	+	+	+	—

註 抗原添加時蔗糖は38%となっている。

総括及び考按

以上実験の結果を総括して考按を加えて見る。

日本脳炎抗原の耐久性及び耐熱性は、他

抗原に比して著しく弱く、其の本態も近時 Sabin¹⁹⁾、波多野²⁰⁾等に依れば感染ウイルスとは異つたもの、或は一種の酵素ならんと云はれている。本態論は兎も角として、之が患

者血清抗体と特異的に反応を示す事は明であり、其の為其の診断的価値も昂つて来ているのであるが、之に安定性を持たしめる努力は安東⁵⁾、北岡⁶⁾、緒方⁹⁾等に依つてなされている如く、一種の蛋白質を含有している材料を使用している。

同じく蛋白質を含有して、而も之を 56°C 30 分非働化して其の分散相を安定ならしめ、分散度を減少せしめた非働化モルモット血清は、其の 1%濃度の添加に依り先人の 0.3~0.5%卵黄緩衝液及び 1%脱脂乳緩衝液と並で何等の遜色なく抗原を加温より保護する。更に其の最適濃度を検討すれば、20%、10%の等量添加に依つては其の濃度の高き為抑制が現はれるが、5%等量添加に依つて其の作用は倍加し、2%等量添加にては稀薄に過ぎることが覗はれる。即ち抗原作製メヂウム中非働化モルモット血清 2.5%を含有する場合が抗原力価の減少もなく、強化も充分であることが認められ、補体結合反应用抗原作製時の 2%加メヂウムと軌を一にするものであることが判る。従つて作製当初より 2.5%非働化モルモット血清加メヂウムを用いて抗原を抽出操作することに依り、室温の可成り高い時期に於ても力価の減少を防いで、高力価の抗原を作製し得る。

本添加抗原は耐熱性を有し其の 10 倍稀釈液と雖、23°C 24時間、28°C 3時間、37°C 1時間の加温放置に耐え、又原液は 37°C 2時間の加温に於ても其の力価を維持する。又電気冷蔵庫 2°Cの保存に於ては 2ヶ月の間完全に其の能力を維持し得、之を以て一定条件下に於ける抑制試験の遂行を可能ならしめる。

更に添加抽出抗原の特異性を見るに、対照普通抗原と何等の差異を現はさず、尚凍結融解にも耐え得る特性を具備した。而し凍結乾燥に耐え得る抗原は作り得なかつた。

之等の点を綜合すれば、材料入手の簡易性、抗原抑制能力の僅少性等と相俟て、非働性モルモット血清添加メヂウム抽出抗原は他材料と遜色なく実用化し得るものと思ふ。

同じく保護物質として其の価値を認められ、

殊に矢追⁷⁾の牛痘ウイルス精製に當つての最も優秀なる保護物質としての蔗糖等糖類は、本抗原に対して何等の保護作用なきのみか、反つて力価減退に働く。

即ち其の等張液添加に際しても其の力価は 37°C 1時間加温に依り既に半減し、2倍、4倍、8倍等張となるに連れて、力価は $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$ と直線状に低下し、38%加 37°C 時に於ける作用時間の時間的關係は 30 分にて $\frac{1}{8}$, 1時間同じく $\frac{1}{8}$, 2時間 $\frac{1}{16}$, 4時間 $\frac{1}{32}$ となり、抗原に対する蔗糖の作用は化学反応を思はしめる。而して之等蔗糖の作用は葡萄糖及び果糖に於ても同一であつて、之が本抗原蛋白部分に作用することは、感染マウス脳抗原 60°C 10 分加温材料には蔗糖作用阻止の能力を有するに反し、無能力抗原、正常マウス脳及び除蛋白抗原には何等其の能力を有しない事に依つて明となる。

以上の如く、非働性モルモット血清等蛋白質含有材には抗原能力保護強化の作用が見られ、蔗糖等糖類には其の反対現象の現はれるのは、牛痘ウイルス及び補体等の実験に於ては未だ全く報告を見ない。本実験のみを以て其の作用を即断するは差控る可であろうが、抗原に対する Sabin¹⁾等の重金属イオンの作用等と共に感染マウス脳蛋白組成の特徴を物語るもので、大きさ 25m μ と云はれる脳炎ウイルスと異り、可成り大きな集合体をなしているものが抗原としての能力を有しているものであつて、其の組成も均一性、緻密性を欠いていて、血清等比較的小粒子状蛋白質は之を保護するに反し、蔗糖等糖類は其の組成間に容易く侵入して或種の変化を起さしめるのであらうと推定する。

結 論

1) 5%非働性モルモット血清加生理的食塩水の等量添加に依り、日本脳炎血球凝集反应用抗原は其の力価を倍加されると共に加温に依る変化を保護される。

2) 非働性モルモット血清の添加濃度は抗原中に 2.5%を含む量を以て最適とする。

3) 2.5% 非働性モルモット血清加生理的食塩水を作製メヂウムとして作った抗原は、耐熱性及び耐久性を有し且完全に其の特異性を維持する。

4) 蔗糖、葡萄糖及び果糖は抗原の力価を低下せしめる。

5) 糖類の作用は濃度、温度、時間に左右され糖の種類には依らない。

6) 糖類の作用は、抗原作用を有するマウ

ス脳では阻止されるも、正常マウス脳及び無能力抗原及び除蛋白抗原では阻止されない。

7) 以上の所謂保護物質の抗原に対する作用は、其の構成蛋白質の特性中特に脆弱性を現はすものであらうと思ふ。

終に臨み始終御懇篤なる御指導及び御校閲を賜つた恩師緒方教授に深甚なる謝意を表す。

本論文要旨は第24回日本衛生学会総会及び第466回岡山医学会通常例会に発表した。

文 献

- 1) Sabin, A. B. & Buscher, E. L. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 74, 222-230, 1950.
- 2) 北岡, 工藤, 波多野, 藤田 : Virus, 第2巻, 第3号, 154—209, 1952.
- 3) 藤本 : 日本脳炎特輯号(I) 岡山医学会雑誌. 第65巻, 第11号, 別巻, 1953.
- 4) 藤本 : 近刊予定.
- 5) 安東他3氏 : Virus. 第3巻, 第3号, 215—216, 1953.
- 6) 北岡, 緒方 : 日本脳炎の診断検査法. 1953.
- 7) 矢追 : ウイルス学入門. 実験医学雑誌. 第22巻, 1117—1129, 1938.
- 8) Bail : Zeitschrift f. Imm. f. Bd. 15, 1912.
- 9) Bayer : Archiv. f. Hyg. Bd. 42, 1902.
- 10) 小宮 : 福岡医科大学雑誌. 第23巻, 第10号, 1930.
- 11) 北岡, 緒方, 江間, 三浦 : Virus, 第3巻, 第3号, 216, 1953.
- 12) Stone J. D. : Aust. J. exp. Biol. & Med. Sci. 24, 197—207, 1946.
- 13) Olitsky, R. K. & Yager, R. H. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 71, 719—724, 1949.
- 14) 緒方, 大川, 緒方(正) : 岡山医学会雑誌. 59年, 23号, 1947.
- 15) 永田 : 第54回岡山医学会総会演説. 1943.
- 16) 波多野 : 広島医学. 第6巻, 第11号, 606—617, 1953.
- 17) 坂口 : 酵素.
- 18) 藤井 : 生化学実験法. 定性篇.
- 19) Sabin, A. B. & Chanock, R. M. : J. Immunol. V. 70, 271—285, 1953.
- 20) 波多野, 森 : Virus. 第4巻, 第2号, 147—155, 1954.

STUDIES ON JAPANESE B ENCEPHALITIS VIRUS (5) EFFECTS OF PROTECTING SUBSTANCES ON ANTIGENS IN HEMAGGLUTINATION OF JAPANESE B ENCEPHALITIS VIRUS.

By

ITSUO FUJIMOTO

Dept. of Hygiene, Okayama University Medical School.

(Director : Prof. M. Ogata.)

In this experiment the protective ability of the guinea-pig serum as well as sugar and glucose against hemagglutinine substance of Japanese B encephalitis virus was reported. In case 0.85% physiological saline water with 5% of inactive guinea-pig serum has been

added to antigen, its antigen ability was seen to be made double, and protected from heat under 37°C . That protective ability has risen to the top at 5%. When we have prepared some antigens using 0.85% physiological saline water that was added certain inactive guinea-pig serum to the extent of 2.5%, antigens which has a good titer, and can stand both for the temperature as well as duration of time, besides, preservable, moreover would not lose its specificity may be obtained. Turnip sugar, glucose as well as fruit sugar give certain injurious effect on antigens ; then its action bears close relation to, not only density, but temperature and lapse of time. Such function of sugars could only be inhibited by antigen protein, a fact that hints at the cue for the future study of antigenal structure.
